

## PEPTYDY ANTYBAKTERYJNE – STRUKTURA I FUNKCJA\*

### ANTIMICROBIAL PEPTIDES – STRUCTURE AND FUNCTION

Barbara MICKOWSKA

Zakład Biochemii Analitycznej, Instytut Biologii Molekularnej UJ, Kraków

**Streszczenie:** W skład systemu obronnego roślin i zwierząt wchodzi między innymi peptydy o właściwościach antybakteryjnych lub antygrzybiczych. Pomimo dużego zróżnicowania pod względem występowania i sekwencji aminokwasów, większość z nich to kationowe cząsteczki o budowie amfipatycznej. Ze względu na strukturę przestrzenną można wśród nich wyróżnić kilka głównych grup: 1. Liniowe, formujące  $\alpha$ -helisy; 2. Antyrównoległe arkusze  $\beta$  stabilizowane wewnątrzcząsteczkowymi wiązaniami disiarczkowymi; 3. Struktury  $\alpha+\beta$  stabilizowane mostkami disiarczkowymi; 4. Struktury cykliczne; 5. Liniowe, o sekwencji wzbogaconej w określone aminokwasy. Aktywność peptydów skierowana selektywnie przeciwko mikroorganizmom obejmuje bakterie, grzyby, niektóre pierwotniaki, a nawet komórki nowotworowe. Wobec wzrastającej oporności mikroorganizmów na konwencjonalne antybiotyki, peptydy antybakteryjne mogą stać się w przyszłości bogatym źródłem antybiotyków o zastosowaniu klinicznym.

(*Postępy Biologii Komórki* 2001; *supl.* 16: 245–259)

**Słowa kluczowe:** peptydy antybakteryjne, peptydy antygrzybicze, antybiotyki

**Summary:** Antimicrobial peptides are part of defense system mainly in plants and animals. In spite of great diversity of origin and amino acid composition, almost all of them are cationic (due to presence excess Arg and Lys residues) and molecules form amphipathic structures. Antimicrobial peptides can be divided into several main groups based on their three-dimensional structure: 1. Linear, forming  $\alpha$ -helices; 2. Antiparallel  $\beta$ -sheets stabilized by intramolecular disulfide bonds; 3.  $\alpha$ -helical and  $\beta$ -sheet mixed structure with disulfide bonds; 4. Cyclic structures; 5. Linear, with unusually high content of certain amino acid, often forming extended helices. Antimicrobial activity of these peptides is very broad, including bacteria, fungi, some protozoa and even cancer cells. They are selectively toxic to microorganisms. Owing to the increasing resistance of bacteria to conventional antibiotics, antimicrobial peptides seem to be promising source of antibiotics in future.

(*Advances in Cell Biology* 2001; *suppl.* 16: 245–259)

**Key words:** antimicrobial peptides, antibacterial, peptide antibiotics

\*Dofinansowanie: praca częściowo finansowana przez KBN grant nr 6 P04B 00914

## 1. WSTĘP

Jednym z wielu elementów systemów obrony przed chorobotwórczymi mikroorganizmami są peptydy o aktywności antybakteryjnej bądź antygrzybiczej. Niektóre z nich produkowane są w komórkach konstytutywnie, synteza i lokalne uwalnianie innych wywoływane jest przez inwazję mikroorganizmów [1, 20, 24].

Peptydy o właściwościach antybiotyków są zwykle cząsteczkami kationowymi, zawierającymi od dwóch do dziewięciu ładunków dodatnich, pochodzących od reszt argininy i lizyny. Łańcuchy polipeptydowe długości kilkudziesięciu aminokwasów w około 50% składają się z reszt hydrofobowych, a cząsteczki mają budowę amfipatyczną, w której wyróżnić można część polarną i hydrofobową [23, 24].

Biosynteza peptydów antybakteryjnych przebiegać może w dwojaki sposób. W komórkach bakterii i grzybów zachodzi ona na kompleksach wieloenzymatycznych. Peptydy tak syntetyzowane często zawierają hydroksy- oraz D-aminokwasy, niejednokrotnie podlegają też dalszym modyfikacjom: metylacji, acylacji, glikozylacji, cyklizacji [23]. W organizmach wielokomórkowych roślin i zwierząt peptydy antybakteryjne syntetyzowane są na rybosomach, a następnie mogą podlegać modyfikacjom potranslacyjnym: glikozylacji łańcuchami oligosacharydowymi, tworzeniu wewnątrzcząsteczkowych wiązań disiarczkowych, amidacji C-terminalnej grupy karboksylowej, halogenacji, fosforylacji, hydroksylacji, metylacji oraz epimeryzacji L-aminokwasów do D-aminokwasów [1]. Ponadto peptydami o właściwościach antybakteryjnych mogą być również produkty proteolitycznej degradacji białek [23].

W organizmach wielokomórkowych peptydy antybakteryjne występują głównie w tkankach najbardziej narażonych na pierwszy kontakt i wniknięcie mikroorganizmów chorobotwórczych lub w komórkach fagocytykujących, odpowiedzialnych za zwalczanie intruzów (tab. 1). Peptydy antybakteryjne cechuje [1, 20, 24]:

- zdolność szybkiego zabijania komórek mikroorganizmów,
- szeroki zakres działania – bakteriobójcze, grzybobójcze, aktywne przeciw pierwotniakom,
- selektywność w stosunku do komórek mikroorganizmów i niska cytotoksyczność,
- aktywność przeciwko niektórym mikroorganizmom chorobotwórczym opornym na konwencjonalne antybiotyki,
- brak wytwarzania *in vitro* opornych mutantów,
- oporność na działanie enzymów proteolitycznych – dzięki zawartości D – oraz modyfikowanych aminokwasów, a także bardzo zwartej strukturze cząsteczek.

## 2. KLASYFIKACJA PEPTYDÓW ANTYBAKTERYJNYCH

Peptydy antybakteryjne przejawiają duże zróżnicowanie strukturalne, można jednak wśród nich wyróżnić kilka głównych grup [15, 20, 24, 27, 35]:

TABELA 1. Lokalizacja peptydów antybakteryjnych w organizmach roślin i zwierząt

Rośliny	nasiona, liście, kwiaty, bulwy, strąki, ksylem, peryferyczne warstwy komórek [20, 21]
Bezkęgowce	jady, płyny ustrojowe (np. hemolimfa), ziarnistości komórek fagocytycznych [20, 23]
Kęgowce	komórki nabłonkowe i ich wydzieliny, skóra, ziarnistości komórek fagocytycznych (ziarnistości te formują fagolizosom lub ich zawartość uwalniana jest do środowiska w miejscu infekcji) [19, 20, 23]

- $\alpha$ -helikalne,
- antyrównoległe arkusze  $\beta$  stabilizowane mostkami disiarczkowymi,
- struktury  $\alpha+\beta$  stabilizowane mostkami disiarczkowymi,
- cykliczne,
- zawierające unikalną kompozycję aminokwasów.

### 2.1. Peptydy $\alpha$ -helikalne

Liniowe peptydy nie mające wewnątrzcząsteczkowych mostków disiarczkowych w roztworach zwykle mają konformację przypadkową, natomiast w środowisku hydrofobowym (np. podczas interakcji z błoną lipidową) przyjmują amfipatyczną strukturę  $\alpha$ -helikalną [13, 24, 37]. Reprezentantami tej grupy są m.in. magaininy, cekropiny, dermaseptyny i melityna, peptyd występujący w jadzie pszczoł [13, 32].

Magaininy, 23-aminokwasowe peptydy wyizolowano ze skóry afrykańskich żab *Xenopus laevis* [13, 15, 27, 37]. Magaininy wydzielane na powierzchnię skóry chronią żabę przed infekcjami, zagrażającymi jej w skażonej wodzie, działając skutecznie nawet w przypadku uszkodzenia skóry. Oprócz selektywnej aktywności przeciwko mikroorganizmom, magaininy oraz ich syntetyczne analogi wykazują aktywność skierowaną przeciwko komórkom nowotworowym [32, 37] (rys. 1).

Cekropiny wyizolowano z hemolimfy ćmy *Hyalophora cecropia* [18, 22]. Łańcuch polipeptydowy cekropin składający się z 31–39 aminokwasów w środowisku hydrofobowym formuje strukturę złożoną z dwóch odcinków  $\alpha$ -helikalnych (C- i N-końcowych), połączonych krótkim regionem zawiasowym. Helisa N-terminalna jest amfipatyczna i bardziej hydrofilowa (ładunki dodatnie), natomiast domena C-terminalna jest hydrofobowa [8, 11, 32]. Peptydy podobne do cekropin wyizolowano również z wielu innych gatunków owadów, a także z jelita cienkiego świni (cecropina P1) [11, 13, 27, 35, 37].

Dermaseptyny są liniowymi peptydami o łańcuchach długości 28–34 aminokwasów, wyizolowanymi ze skóry żab rodzaju *Phyllomedusa*, wykazującymi nie

tylko właściwości antybakteryjne, ale także aktywność przeciwko niektórym grzybom i pierwotniakom [2, 28, 36, 45].

Innymi peptydami zdolnymi do przyjmowania struktur helikalnych są bombininy izolowane z wydzieliny skóry żab *Bombina variegata* i *B. orientalis* oraz buforyna II z żołądka ropuchy *Bufo bufo gargarizans* [27, 28, 45].

## 2.2. Arkusze $\beta$ stabilizowane mostkami disiarczkowymi

Peptydy o strukturze spinki do włosów, składającej się z dwóch antyrównoległych nici  $\beta$  „spiętych” dwoma mostkami disiarczkowymi wyizolowano z hemocytów kraba *Tachypleus tridentatus* oraz leukocytów świni. Grupy tych peptydów nazwano odpowiednio tachyplesynami i protegrynami. Są to niewielkie cząsteczki (16–18 aminokwasów) o 4–6 ładunkach dodatnich i amidowanej C-teminalnej grupie karboksylowej [14, 16, 35]. Wykazują one szeroki zakres działania przeciwko bakteriom i grzybom, ponadto mają zdolność wiązania się do lipopolisacharydu, co zapewne jest czynnikiem wzmacniającym ich aktywność przeciwko bakteriom Gram-ujemnym [14, 32, 35]. Podobne peptydy wyizolowano z hemocytów gatunku *Limulus polyphemus* spokrewnionego z krabem *Tachypleus tridentatus* [14, 32, 35].

Strukturalnie zbliżona do tachyplesyn i protegryn jest tanatyna – peptyd o właściwościach antybakteryjnych i antygrzybiczych wyizolowany z pluskwiaka *Podisus maculiventris*. Tanatyna ma również strukturę antyrównoległego arkusza  $\beta$ , którego dwie nici połączone są zwrotem  $\beta$  i spięte jednym mostkiem disiarczkowym. Siedem pierwszych aminokwasów z 21-aminokwasowego łańcucha tworzy długie, ruchome ramię o dużej zmienności konformacyjnej [14, 33] (rys. 2).

Defensyny kręgowców to cała rodzina peptydów zbudowanych z 29–42 aminokwasów, o cząsteczkach, które mają konformację trójniciowego antyrównoległego arkusza  $\beta$  stabilizowanego przez 3 wewnątrzcząsteczkowe mostki disiarczkowe [30, 44, 49]. Są to kationowe struktury amfipatyczne, o 2 do 10 ładunkach dodatnich. Ze względu na różnice w strukturze cząsteczek, przejawiające się w różnej lokalizacji mostków disiarczkowych, a także odmiennych miejscach ekspresji wprowadzono podział na  $\alpha$ - oraz  $\beta$ -defensyny.  $\alpha$ -Defensyny występują w ziarnistościach neutrofili, gdzie stanowią znaczny procent białek, ponadto ich obecność wykryto w makrofagach oraz wydzielinach komórek nabłonka jelita cienkiego człowieka, szczurów, i myszy [30, 31, 35, 44]. Tę ostatnią grupę defensyn wydzielanych przez komórki Panetha nazwano kryptydynami [30, 44].  $\beta$ -Defensyny wykryto w nerkach, trzustce, keratynocytach i innych komórkach nabłonkowych (np. w nabłonku dróg oddechowych), leukocytach oraz w surowicy krwi i niektórych gruczołach np. ślinowych [3, 30, 34, 35, 36, 41, 42, 47, 48]. Zakres działania defensyn przeciwko mikroorganizmom jest bardzo szeroki – są toksyczne w stosunku do bakterii, grzybów, pierwotniaków, a nawet wirusów [31] (rys. 3).

### 2.3. Struktury $\alpha+\beta$ stabilizowane mostkami disiarczkowymi

Liczną grupę peptydów antybakteryjnych rozpowszechnionych wśród owadów nazwano owadziimi defensynami. Obecność tych związków wykryto w organizmach muchówek, chrząszczy, błonkówek, pluskwiaków i ważek [7, 11, 14, 35]. Homologiczne peptydy znaleziono też w skorpionach, a nawet mięczakach [7, 14]. Owadzie defensyny są peptydami kationowymi, zbudowanymi z 34–46 aminokwasów [7, 14]. W ich strukturze trzeciorzędowej wyróżniono N-terminalną pętlę przechodzącą w amfipatyczną  $\alpha$ -helisę oraz dwuniciowy antyrównoległy arkusz  $\beta$ . Domena  $\alpha$ -helikalna jest połączona z C-terminalną nicią arkusza  $\beta$  dwoma mostkami disiarczkowymi, formując charakterystyczny motyw strukturalny CS $\alpha\beta$  (ang. *Cysteine-Stabilized  $\alpha\beta$* ), gdzie dwie cysteiny w domenie  $\alpha$ -helikalnej umiejscowione są w sąsiadujących skrętach helisy, a cysteiny nici  $\beta$  rozdzielone tylko jednym aminokwasem. Trzeci mostek disiarczkowy obecny w cząsteczce wiąże N-terminalną pętlę z centralną nicią arkusza  $\beta$  [12, 14]. Takie rozmieszczenie mostków disiarczkowych zapewnia dużą stabilność struktury przestrzennej cząsteczek, pozwalając jedynie na zmiany położenia pętli N-terminalnej [12]. Pojawianie się większości defensyn w hemolimfie owadów indukowane jest infekcją bakteryjną [7, 11, 12] (rys. 4).

Oprócz peptydów antybakteryjnych, jakimi są defensyny, owady wydzielają też peptydy o właściwościach antygrzybiczych. Pierwszym odkrytym peptydem tej grupy była drosomycyna, wyizolowana z muszki *Drosophila melanogaster*. Łańcuch polipeptydowy drosomycyny, składający się z 44 aminokwasów przyjmuje konformację motywu strukturalnego CS $\alpha\beta$  z dodatkową, trzecią nicią w arkuszu  $\beta$ , stworzoną przez fragment N-terminalny. Cała cząsteczka ma bardzo zwartą strukturę, głównie dzięki dodatkowemu, czwartemu mostkowi disiarczkowemu „spinającemu” początkowy i końcowy fragment łańcucha polipeptydowego [7, 14] (rys. 5).

Drosomycyna wykazuje strukturalne podobieństwo do defensyn roślinnych, które również przejawiają aktywność przeciugrzybiczą [7, 14].

Roślinne defensyny, zbudowane z 45–54 aminokwasów, zawierają cztery mostki disiarczkowe, stabilizujące trójniciowy, antyrównoległy arkusz  $\beta$  oraz równoległą do niego domenę  $\alpha$ -helikalną [5, 6, 21] (rys. 6).

Roślinnymi peptydami obronnymi, wyizolowanymi z wielu gatunków roślin, są tioniny. Amfipatyczne cząsteczki tionin zbudowane są z dwóch antyrównoległych  $\alpha$ -helis, tworzących dłuższe „ramię” oraz mniejszej domeny – arkusza  $\beta$ , składającego się z dwóch krótkich, antyrównoległych nici  $\beta$ . Cała struktura stabilizowana jest przez trzy lub cztery mostki disiarczkowe. Zewnętrzna powierzchnia domeny  $\alpha$ -helikalnej jest hydrofobowa, natomiast jej obszar wewnętrzny oraz region łączący obie domeny ma charakter hydrofilowy [5, 17].

## 2.4. Peptydy o budowie cyklicznej

W cząsteczkach niektórych niewielkich peptydów, dzięki obecności wewnątrzcząsteczkowego wiązania disiarczkowego, następuje cyklizacja krótkiego, kilkuaminokwasowego odcinka. Powstała w ten sposób C-terminalna struktura pierścieniowa zawiera aminokwasy o ładunkach dodatnich, natomiast domena hydrofobowa w postaci „ogonka” znajduje się na przeciwnym, N-terminalnym biegunie cząsteczki. Domena ta może przyjmować konformację  $\alpha$ -helikalną, jak dzieje się to w przypadku peptydu ranaleksyny [10]. Innymi peptydami o strukturze zawierającej pierścień heptapeptydowy wyizolowanymi ze skóry żab z rodzaju *Rana* są brewininy i eskulentyny [28, 45]. Stwierdzono znaczne podobieństwo wyżej wymienionych peptydów do polimyksyn, antybiotyków otrzymywanych z bakterii *Bacillus polymyxa* [10].

Cykliczny dodekapeptyd – bakteneocynę – wyizolowano z neutrofilów wołowych. W odróżnieniu od peptydów ze skóry płazów, w cząsteczce bakteneocyny pierścień utworzony jest przez środkową część łańcucha polipeptydowego, obejmującą dziewięć aminokwasów [1, 39].

Cztery duże cykliczne peptydy odkryto w roślinach rodziny *Rubiaceae*. Cząsteczki o rozmiarach 29–31 aminokwasów są cyklicznymi strukturami amidowymi, o połączonych końcach łańcucha peptydowego. Peptydy te – kalata, cyrkulina A i B oraz CPT – zawierają trzy mostki disiarczkowe formujące tzw. motyw „węzła” cystynowego (ang. *Cystine-knot*), w którym jeden z mostków „przewleczony” jest pomiędzy dwoma pozostałymi. Powstały w ten sposób „węzeł cystynowy” wypełnia wnętrze cząsteczki, a na powierzchni znajdują się aminokwasy kationowe oraz hydrofobowe [46] (rys. 7).

## 2.5. Peptydy o unikalnej kompozycji aminokwasów

W sekwencji aminokwasowej niektórych peptydów antibakteryjnych charakterystyczna jest dominacja jednego lub kilku specyficznych aminokwasów. Udział dominującego aminokwasu w składzie łańcucha polipeptydowego wynosi od kilkunastu do kilkudziesięciu procent. Peptydy te mają strukturę liniową, z tendencją do tworzenia helis lub tzw. rozciągniętych helis w środowisku hydrofobowym. Niektóre z tych peptydów mogą być glikozylowane [1, 7, 11, 15, 24, 27, 35, 36, 47].

## 3. PODSUMOWANIE

Peptydy kationowe są grupą związków przejawiających bardzo szeroki zakres aktywności skierowanej przeciwko różnym grupom mikroorganizmów, poczynając od bakterii (zarówno gramododatnich, jak i gramujemnych), przez grzyby, pierwotniaki, a kończąc na wirusach. W niektórych przypadkach udowodniono nawet wła-

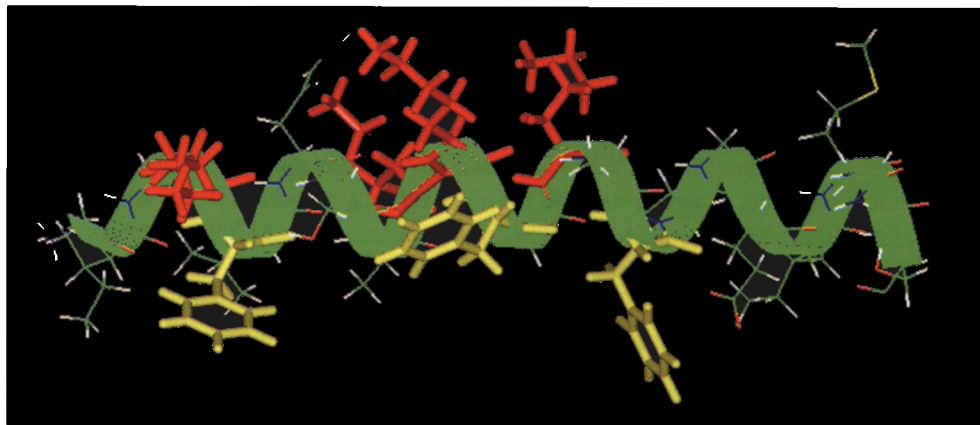
TABELA 2. Peptydy zawierające dominujące aminokwasy [4, 7, 9, 18, 22, 25, 26, 29, 38, 40, 43]

Wzbogacenie w aminokwas	Nazwa peptydu	Występowanie
Prolina + arginina	PR-39, Bac-5, Bac-7	jelito cienkie świni
Histydyna	Histatyny	ślina ludzka
Tryptofan	Tritrpticyna      Indolicydyna	neutrofile wołowe
Prolina + fenyloalanina	Prophenin-1	leukocyty świni
Glicyna	Dipterycyny      Attacyny Sarkotoksyny,      Kolcopterycyna Holotricyny,      Hemipterycyna Tenecyna,      Głoweryny	owady
Prolina	Drosocyna,      Abecyna Apidecyny,      Lebocyny Miecznikowina,      Formecyna Metalnikowiny	owady

ściwości antynowotworowe. Przy jednoczesnym znikomym wytwarzaniu oporności u mikroorganizmów stanowią potencjalne źródło antybiotyków o możliwości zastosowania klinicznego. Niestety, obecnie zastosowanie peptydów jako antybiotyków jest raczej ograniczone. Antybiotyki uzyskiwane z bakterii (np. polimyksyny, gramicydyna, bacytracyna) są często toksyczne dla komórek eukariotycznych i wywołują niekorzystne efekty uboczne. Jednakże zmniejszająca się skuteczność konwencjonalnych antybiotyków wskutek wzrastającej oporności mikroorganizmów skłania do intensywnych poszukiwań alternatywnych źródeł antybiotyków. Peptydy kationowe wydają się być obiecującym narzędziem w rozwiązaniu tego problemu. Obiektem zainteresowania są peptydy o wysokiej selektywności działania w stosunku do komórek mikroorganizmów, a zarazem nietoksyczne dla komórek eukariotycznych. Izolacja nowych peptydów, modyfikacje prowadzące do uzyskania półsyntetycznych analogów oraz chemiczna synteza nowych antybiotyków na bazie dotychczas poznanych struktur stwarzają perspektywy na otrzymanie w przyszłości dużej różnorodności antybiotyków [13, 23, 31, 35, 47].

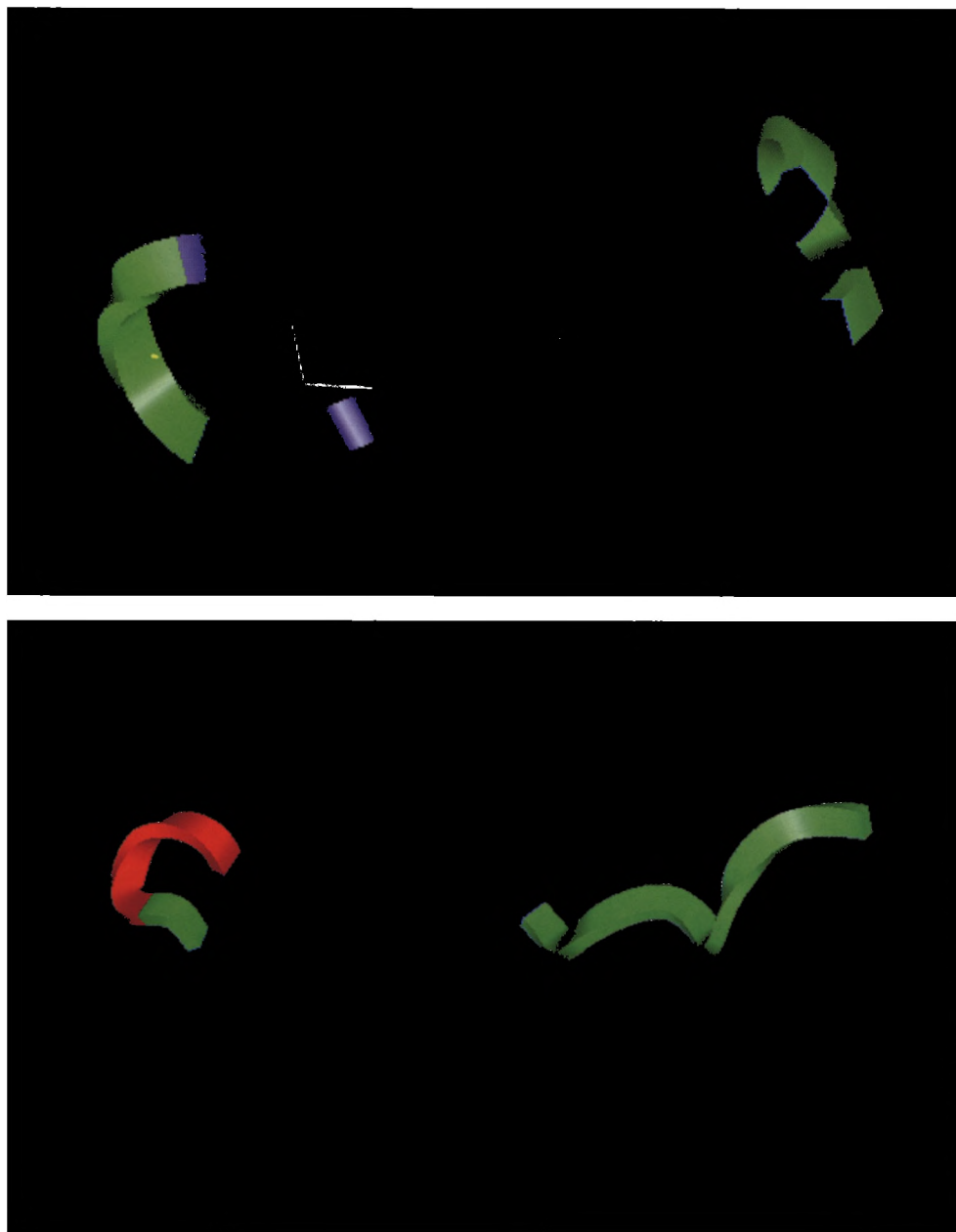
## PODZIĘKOWANIE

Serdeczne podziękowania składam Panu prof. dr hab. Adamowi Dubinowi za pomoc oraz cenne wskazówki udzielane przy opracowywaniu niniejszego artykułu.

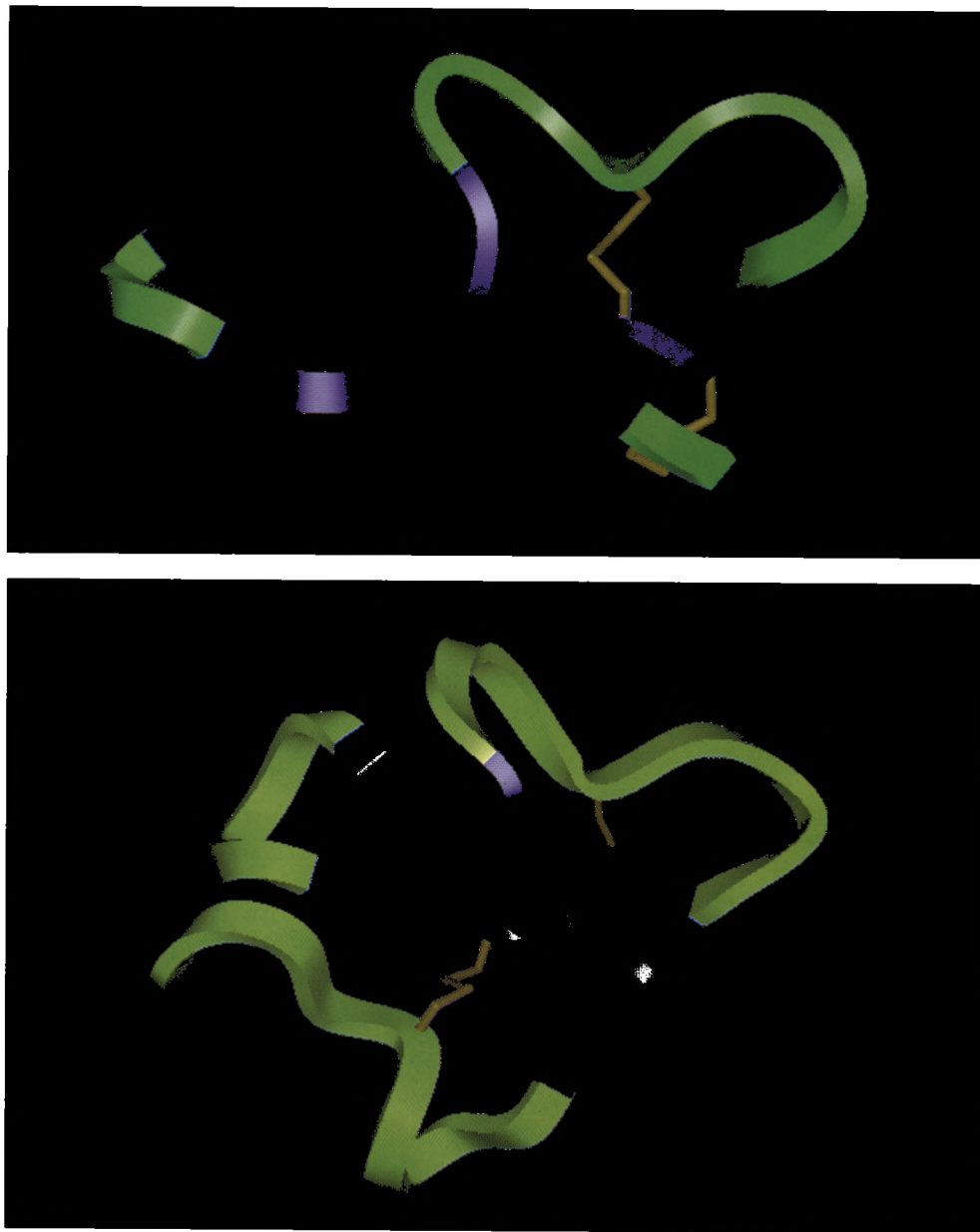


RYSUNEK 1.  $\alpha$ -helikalna struktura magaininy, z uwidocznieniem amfipatycznego charakteru cząsteczki: reszty obdarzone ładunkiem dodatnim – kolor czerwony, reszty aromatyczne – kolor żółty. [Dane niepublikowane – K. Murzyn IBM UJ Kraków]

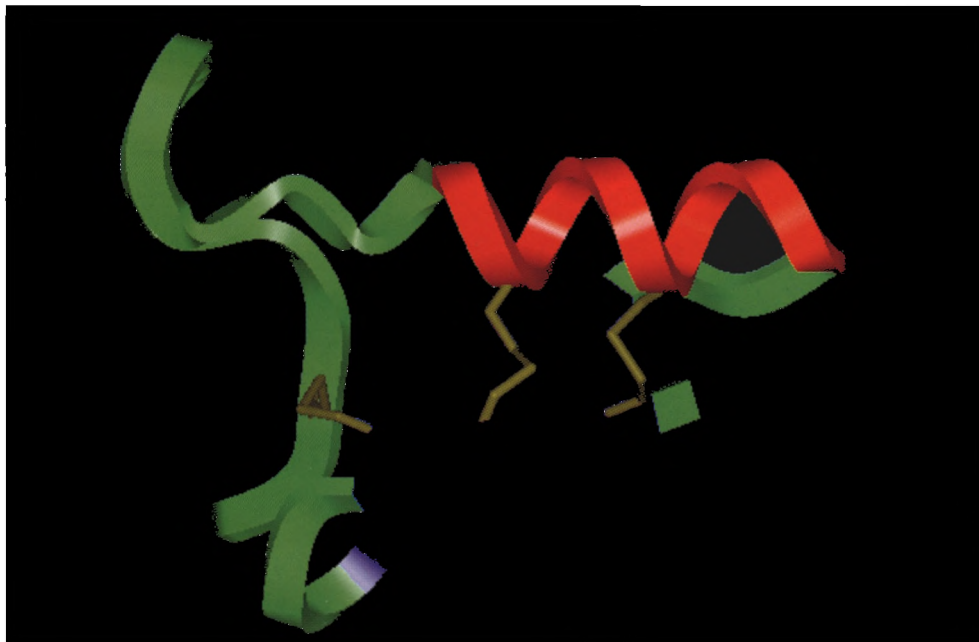




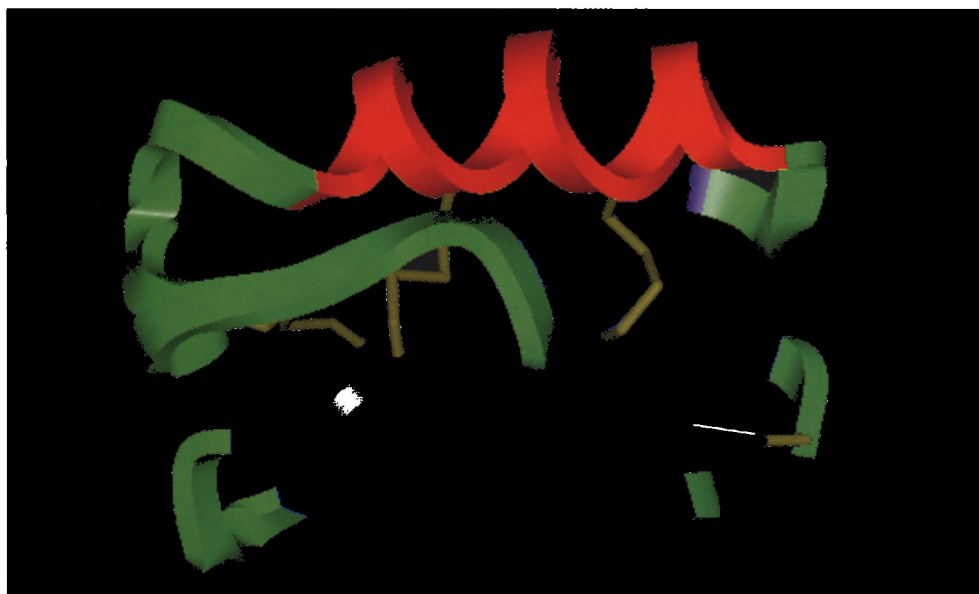
RYSUNEK 2. Struktura protegryny-1 (a) oraz tanatyny (b). Mostki disiarczkowe przedstawiono w kolorze żółtym. Rysunki wykonano za pomocą programu BioSym (Insight II) na podstawie współrzędnych z Protein Data Bank (protegryna - kod 1PG, tanatyna - kod 8TVF)



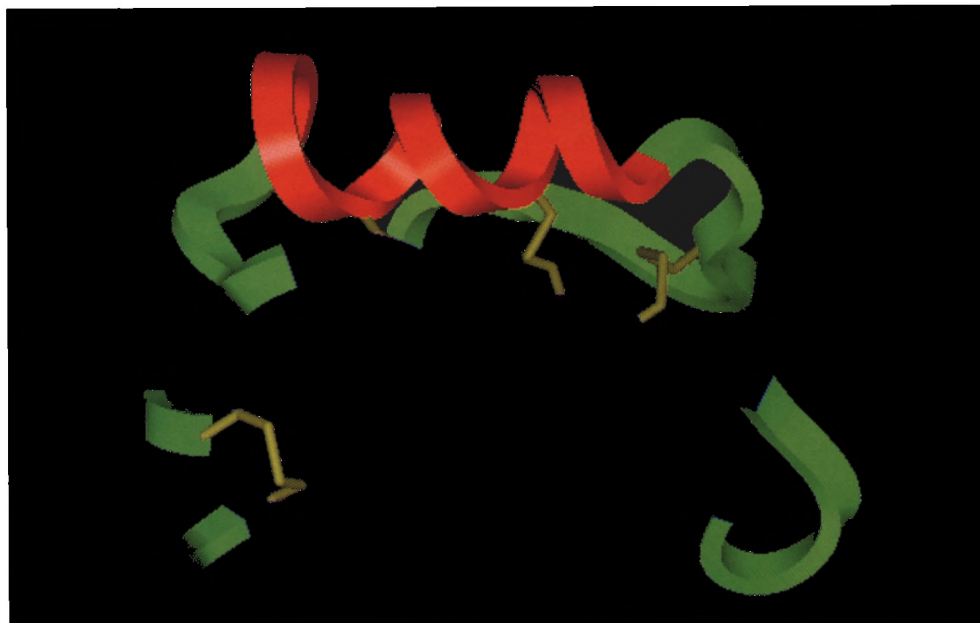
RYSUNEK 3. Struktury przestrzenne defensyn: (a) struktura krystalograficzna ( $\alpha$ -defensyny z ludzkich neutrofilii); (b) struktura  $\beta$ -defensyny 12 z wołowych neutrofilii. Rysunki wykonano za pomocą programu BioSym (Insight II) na podstawie współrzędnych z Protein Data Bank ( $\alpha$ -defensyna - kod 1DDN,  $\beta$ -defensyna 12 - kod 1BNB)



RYSUNEK 4. Struktura przestrzenna owadziej defensyny A, zbudowanej ze struktur drugorzędowych  $\alpha\beta\beta$  stabilizowanych trzema mostkami disiarczkowymi. Rysunek wykonano za pomocą programu BioSym (Insight II) na podstawie współrzędnych z Protein Data Bank (kod 1ICA)



RYSUNEK 5. Struktura drosomycyny, składająca się ze struktur drugorzędowych  $\beta\alpha\beta\beta$  połączonych czterema mostkami disiarczkowymi. Rysunek wykonano za pomocą programu BioSym (Insight II) na podstawie współrzędnych z Protein Data Bank (kod 1MYN)



RYСУNEK 6. Struktura przestrzenna roślinnej defensyny, składająca się ze struktur drugorzędowych  $\beta\alpha\beta\beta$  stabilizowanych przez cztery mostki disiarczkowe. Rysunek wykonano za pomocą programu BioSym (Insight II) na podstawie współrzędnych z Protein Data Bank (kod 1BK8)



RYСУNEK 7. Kalata B1, roślinny peptyd zawierający motyw „węzła” cystynowego. Rysunek wykonano za pomocą programu BioSym (Insight II) na podstawie współrzędnych z Protein Data Bank (kod 1KML)

## LITERATURA

- [1] ANDREU D, RIVAS L. Animal Antimicrobial Peptides: An Overview. *Biopolymers* 1998; **47**: 415–433.
- [2] BATISTA CVF, ROSENDO DA SILVA L, SEBBEN A, SCALONI A, FERRARA L, PAIVA GR, OLAMENDI-PORTUGAL T, POSSANI LD, BLOCH C. Antimicrobial peptides from the Brazilian frog *Phyllomedusa distincta*. *Peptides* 1999; **20**: 679–686.
- [3] BENSCH KW, RAID A, MÄGERT HJ, SCHULZ-KNAPPE P, FORSSMAN WG. hBD-1: a novel  $\beta$ -defensin from human plasma. *FEBS Letters* 1995; **368**: 331–335.
- [4] BREWER D, HUNTER H, LAJOIE G. NMR studies of the antimicrobial salivary peptides histatin 3 and histatin 5 in aqueous and nonaqueous solutions. *Biochem Cell Biol* 1998; **76**: 247–256.
- [5] BROEKAERT WF, CAMMUE BPA, DE BOLLE MFC, THIEVISSEN K, DE SAMBLANX GW, OSBORN RW. Antimicrobial Peptides from Plants. *Crit Rev Plant Sci* 1997; **16**: 297–323.
- [6] BROEKAERT WF, TERRAS FRG, CAMMUE BPA, OSBORN RW. Plant Defensins: Novel Antimicrobial Peptides as Components of the Host Defense System. *Plant Physiol* 1995; **108**: 1353–1358.
- [7] BULET P, HETRU C, DIMARCQ JL, HOFFMAN D. Antimicrobial peptides in insects: structure and function. *Dev Comp Immunol* 1999; **23**: 329–344.
- [8] BULET P. Les peptides antimicrobiens de la drosophile. *medecine/sciences* 1999; **15**: 23–29.
- [9] CABIAUX V, AGERBERTH B, JOHANSSON J, HOMBLE F, GOORMAGHTIGH E, RUYSSCHAERT JM. Secondary structure and membrane interaction of PR-39, a Pro + Arg-rich antibacterial peptide. *Eur J Biochem* 1994; **224**: 1019–1027.
- [10] CLARK DP, DURELL S, MALOY WL, ZASLOFF M. Ranalexin a novel antimicrobial peptide from bullfrog (*Rana catesbeiana*) skin, structurally related to the bacterial antibiotic, polymyxin. *J Biol Chem* 1994; **269**: 10849–10855.
- [11] COCIANCICH S, BULET P, HETRU C, HOFFMAN J.A. The inducible Antibacterial Peptides of Insects. *Parasitol Today* 1994; **10**: 132–139.
- [12] CORNET B, BONMANTIN JM, HETRU C, HOFFMAN JA, PTAK M, VOVELLE F. Refined three-dimensional solution structure of insect defensin A. *Structure* 1995; **3**: 435–447.
- [13] DATHE M, WIEPRECHT T. Structural features of helical antimicrobial peptides: their potential to modulate activity on model membranes and biological cells. *Biochem Biophys Acta* 1999; **1462**: 71–87.
- [14] DIMARCQ JL, BULET P, HETRU C, HOFFMAN J. Cysteine-Rich Antimicrobial Peptides in Invertebrates. *Biopolymers* 1998; **47**: 465–477.
- [15] EPAND RM, VOGEL HJ. Diversity of antimicrobial peptides and their mechanisms of action. *Biochem Biophys Acta* 1999; **1462**: 11–28.
- [16] FAHRNER RL, DIECKMAN T, HARWIG SSL, LEHRER RI, EISENBERG D, FEIGON J. Solution structure of protegrin-1, a broad-spectrum antimicrobial peptide from porcine leukocytes. *Chem Biol* 1996; **3**: 543–550.
- [17] FLORACK DEA, STIEKEMA WJ. Thionins: properties, possible biological roles and mechanisms of action. *Plant Mol Biol* 1994; **26**: 25–37.
- [18] GACEK GJ. Peptydy przeciwbakteryjne owadów. *Post Mikrobiol* 1997; **XXXVII**: 289–310.
- [19] GALLO RL, HUTTNER KM. Antimicrobial Peptides: An Emerging Concept in Cutaneous Biology. *J Invest Dermatol* 1998; **111**: 739–743.
- [20] GANZ T, LEHRER RI. Antibiotic peptides from higher eukaryotes: biology and applications. *Mol Med Today* 1999; **5**: 292–297.
- [21] GARCIA-OLMEDO F, MOLINA A, ALAMILLO JM, RODRIGUEZ-PALENZUELA P. Plant Defense Peptides. *Biopolymers* 1998; **47**: 479–491.

- [22] GLIŃSKI Z, JAROSZ J. Polipeptydy odpornościowe owadów – chemioterapeutyki przeciwbakteryjne i przeciwgrzybicze. *Post Mikrobiol* 1998; XXXVII: 247–259.
- [23] HANCOCK REW, CHAPPLE DS. Peptide Antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; **43**: 1317–1323.
- [24] HANCOCK REW, LEHRER R. Cationic peptides: a new source of antibiotics. *TIBTECH* 1998; **16**: 82–87.
- [25] HARA S, YAMAKAWA M. A novel antibacterial peptide family isolated from the silkworm *Bombyx mori*. *Biochem J* 1995; **310**: 651–656.
- [26] HARWIG SSL, KOKRYAKOV VN, SWIDEREK KM, ALESHINAGM, ZHAOC, LEHRER RI. Prophenin-1, an exceptionally proline-rich antimicrobial peptide from porcine leukocytes. *FEBS Letters* 1995; **362**: 65–69.
- [27] HWANG PM, VOGEL HJ. Structure - function relationships of antimicrobial peptides. *Biochem Cell Biol* 1998; **76**: 235–246.
- [28] KREIL G. Antimicrobial Peptides from amphibian skin: an overview. *Amphibian peptides. Ciba Found Symp* 1994; **186**: 77–90.
- [29] LADOKHIN AS, SELSTED ME, WHITE SH. CD spectra of Indolicidin Antibacterial Peptides Suggest Turns, Not Polyproline Helix. *Biochemistry* 1999; **38**: 12313–12319.
- [30] LEVY O. Antibiotic proteins of polymorphonuclear leukocytes. *Eur J Haematol* 1996; **56**: 263–277.
- [31] MAK P. Antybakteryjne białka i peptydy ludzkich neutrofili. W poszukiwaniu nowych antybiotyków. *Post Biol Kom* 1994; **21**: 157–173.
- [32] MALOY WL, KARI UP. Structure - Activity Studies on Magainins and Other Host Defense Peptides. *Biopolymers (Peptide Science)* 1995; **37**: 105–122.
- [33] MANDARD N, SODANO P, LABBE H, BOUMATIN JM, BULET P, HETRU C, PTAK M, VOVELLE F. Solution structure of thanatin, a potent bactericidal and fungicidal insect peptide, determined from proton two-dimensional nuclear magnetic resonance data. *Eur J Biochem* 1998; **256**: 404–410.
- [34] MATHEWS M, JIA HP, GUTHMILLER JM, LOSH G, GRAHAM S, JOHNSON GK, TACK BF, MCCRAY PB. Production of  $\beta$ -Defensin Antimicrobial Peptides by the Oral Mucosa and Salivary Glands. *Infect Immun* 1999; **67**: 2740–2745.
- [35] MIYASAKI KT, LEHRER RI.  $\beta$ -sheet antibiotic peptides as potential dental therapeutics. *Int J Antimicrob Agents* 1998; **9**: 269–280.
- [36] NICOLAS P, MOR A. Peptides as weapons against microorganisms in the chemical defense system of vertebrates. *Annu Rev Microbiol* 1995; **49**: 277–304.
- [37] OREN Z, SHAI Y. Mode of Action of Linear Amphipathic  $\alpha$ -Helical Antimicrobial Peptides. *Biopolymers (Peptide Science)* 1998; **47**: 451–463.
- [38] RAJ PA, MARCUS E, EDGERTON M. Delineation of an Active Fragment and Poly(L-proline)II Conformation for Candidacidal Activity of Bactenecin 5. *Biochemistry* 1996; **35**: 4314–4325.
- [39] ROMEO D, SKERLAVAJ B, BOLOGNESI M, GENNARO R. Structure and Bactericidal Activity of an Antibiotic Dodecapeptide Purified from Bovine Neutrophils. *J Biol Chem* 1988; **263**: 9573–9575.
- [40] SCHIBLI DJ, HWANG PM, VOGEL HJ. Structure of the Antimicrobial Peptide Tiritpticin Bound to Micelles: A Distinct Membrane - Bound Peptide Fold. *Biochemistry* 1999; **38**: 16749–16755.
- [41] SCHNAPP D, REID CJ, HARRIS A. Localization of expression of human Beta defensin-1 in the pancreas and kidney. *J Pathol* 1998; **186**: 99–103.
- [42] SCHRÖDER JM, HARDER J. Human beta-defensin-2. *Int J Biochem Cell Biol* 1999; **31**: 645–651.

- [43] SELSTED ME, NOVOTNY MJ, MORRIS WL, TANG YQ, SMITH W, CULLOR JS. Indolicidin, a Novel Bactericidal Tridecapeptide Amide from Neutrophils. *J Biol Chem* 1992; **267**: 4292-4295.
- [44] SELSTED ME, OUELLETTE AJ. Defensins in granules of phagocytic and non-phagocytic cells. *Trends Cell Biol* 1995; **5**: 114-119.
- [45] SIMMACO M, MIGNOGNA G, BARRA D. Antimicrobial Peptides from Amphibian Skin: What Do They Tell Us? *Biopolymers* 1998; **47**: 435-450.
- [46] TAM JP, LU YA, YANG JL, CHIU KW. An unusual structural motif of antimicrobial peptides containing end-to-end macrocycle and cystine-knot disulfides. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; **96**: 8913-8918.
- [47] WEINBERG A, KRISANAPRAKORNKIT S, DALE BA. Epithelial Antimicrobial Peptides: Review and Significance for Oral Applications. *Crit Rev Oral Biol Med* 1998; **9**: 399-414.
- [48] ZHAO C, WANG I, LEHRER RI. Widespread expression of beta-defensin hBD-1 in human secretory glands and epithelial cells. *FEBS Letters* 1996; **396**: 319-322.
- [49] ZIMMERMAN GR, LEGAULT P, SELSTED ME, PARDI A. Solution Structure of Bovine Neutrophil  $\beta$ -Defensin-12: The Peptide Fold of the  $\beta$ -Defensin is Identical to that of the Classical Defensins. *Biochemistry* 1995; **34**: 13663-13671.

Al. Mickiewicza 3, 31-120 Kraków  
e-mail: EUREKA@mol.uj.edu.pl